

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *true experimental* yakni peneliti dapat mengontrol variabel luar yang dapat mempengaruhi jalannya penelitian (Sugiyono, 2015).

#### **3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Universitas Islam Malang dan pengujian Pb di Laboratorium Halal Center Universitas Islam Malang. Penelitian dilaksanakan pada bulan 17 Oktober sampai dengan 2 Desember 2018.

#### **3.3 Populasi, Sampel, dan Teknik Sampling**

##### **3.3.1 Populasi**

Populasi pada penelitian ini adalah tanaman air *Pistia stratiotes* dan *Azolla microphylla* di laboratorium terpadu Universitas Muhammadiyah Malang, *Salvinia molesta* di area persawahan desa Banjarejo kecamatan Pagelaran Malang yang memiliki kriteria daun berwarna hijau dan segar serta berumur 8 minggu.

##### **3.3.2 Sampel**

Sampel dalam penelitian ini adalah 450 g *Pistia stratiotes* dan 450 g *Azolla microphylla* yang ada di laboratorium terpadu UMM, serta sebanyak 450 g *Salvinia molesta* yang ada di area persawahan desa Banjarejo kecamatan

Pagelaran Malang. Dimana masing-masing perlakuan menggunakan 45 g tanaman dengan 2 kali ulangan. Pada penelitian ini juga terdapat kelompok kontrol yaitu perendaman *Pistia stratiotes*, *Salvinia molesta*, dan *Azolla microphylla* pada aquades tanpa limbah buatan yang mengandung logam timbal.

### **3.3.3 Teknik Sampling**

Teknik sampling yang digunakan adalah *purposive sampling*, yaitu teknik pengambilan sampel dengan memilih berdasarkan kriteria tertentu. Penelitian ini menggunakan tanaman dengan kriteria berwarna hijau, umur 8 minggu, jumlah daun 6-12 helai, dan panjang akar 3-6 cm.

## **3.4 Variabel Penelitian**

### **3.4.1 Jenis Variabel**

#### **1. Variabel Bebas**

Variabel bebas pada penelitian ini adalah jenis tanaman (*Pistia stratiotes*, *Salvinia molesta*, *Azolla microphylla*) dan lama perendaman (3 hari, 6 hari, 9 hari, dan 12 hari).

#### **2. Variabel Terikat**

Variabel terikat pada penelitian adalah kadar logam Pb pada bagian akar tanaman *Pistia stratiotes*, *Salvinia molesta*, dan *Azolla microphylla*.

#### **3. Variabel Kontrol**

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah berat tanaman, umur tanaman, pH, suhu, dan air.

### 3.4.2 Definisi Operasional Variabel

1. Lama perendaman yang digunakan pada penelitian ini adalah 3 hari, 6 hari, 9 hari, dan 12 hari.
2. Logam timbal mempunyai warna biru kelabu yang biasanya ditemukan sebagai mineral yang berkombinasi dengan unsur lain seperti belerang dan oksigen (Handayanto *et al.*, 2017). Limbah buatan Pb yang digunakan dalam penelitian ini yakni konsentrasi 25 mg/L.
3. *Pistia stratiotes* yang memiliki kriteria berumur 8 minggu, jumlah daun 8-12 helai, dan panjang akar 4-6 cm. Penelitian ini menggunakan *Pistia stratiotes* sebanyak 45 g.
4. *Salvinia molesta* yang memiliki kriteria berumur 8 minggu, jumlah daun 6-11 helai, dan panjang akar 4-5 cm. Penelitian ini menggunakan *Salvinia molesta* sebanyak 45 g.
5. *Azolla microphylla* yang memiliki kriteria berumur 8 minggu, jumlah daun 6-10 helai, dan panjang akar 4-6 cm. Penelitian ini menggunakan *Azolla microphylla* sebanyak 45 g.

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 3.5.1 Persiapan Penelitian

##### 1. Penyiapan Alat dan Bahan

Adapun persiapan yang perlu dilakukan sebelum penelitian yaitu persiapan alat dan bahan. Penyajian alat dan bahan ditampilkan pada Tabel 3.1 dan Tabel 3.2.

**Tabel 3.1 Alat penelitian**

| No. | Nama Alat                     | Jumlah  |
|-----|-------------------------------|---------|
| 1   | Neraca digital                | 1 buah  |
| 2   | Spatula                       | 1 buah  |
| 3   | Timbangan digital             | 1 buah  |
| 4   | Kertas saring whatman         | 30 buah |
| 5   | Desikator                     | 1 buah  |
| 6   | Corong                        | 1 buah  |
| 7   | Labu ukur                     | 1 buah  |
| 8   | Lumpang                       | 1 buah  |
| 9   | Alu                           | 1 buah  |
| 10  | Cawan penguap                 | 6 buah  |
| 11  | Erlenmeyer 50 mL              | 6 buah  |
| 12  | Spektrofotometer Serapan Atom | 1 buah  |
| 13  | Wadah                         | 6 buah  |
| 14  | Pisau                         | 1 buah  |

**Tabel 3.2 Bahan penelitian**

| No | Nama Bahan                        | Jumlah |
|----|-----------------------------------|--------|
| 1  | <i>Pistia stratiotes</i>          | 30     |
| 2  | <i>Salvinia molesta</i>           | 30     |
| 3  | <i>Azolla microphylla</i>         | 30     |
| 4  | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> | 375 mg |
| 5  | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>     | 15 mL  |
| 6  | HNO <sub>3</sub>                  | 750 mL |
| 7  | Aquades                           | 50 L   |

##### 2. Prosedur Kerja

###### a. Persiapan Tanaman

- Memilih tanaman *Pistia stratiotes*, *Salvinia molesta*, dan *Azolla microphylla* yang berumur 8 minggu dengan kriteria jumlah daun 6-12 helai dan panjang akar 3-6 cm.

2. Menimbang tanaman *Pistia stratiotes*, *Salvinia molesta*, dan *Azolla microphylla* masing-masing 45 g.

#### b. Aklimatisasi Tanaman

Mengaklimatisasi tanaman *Pistia stratiotes*, *Salvinia molesta*, dan *Azolla microphylla* yang telah terpilih dalam aquades selama 5 hari untuk adaptasi tanaman. Aklimatisasi tanaman selama 5 hari (Oktavia *et al.*, 2016).

#### c. Pembuatan Larutan Pb

Membuat larutan Pb sebagai limbah buatan dengan konsentrasi 25 mg/L (Sari *et al.*, 2010) dengan rumus yang ditampilkan pada Gambar 3.1.

|             |   |
|-------------|---|
| Konsentrasi | $= \frac{\text{Berat Pb}}{\text{Volume Air}}$ |
| 25 mg/L     | $= \frac{\text{Berat Pb}}{5 \text{ L}}$       |
| Berat Pb    | $= 25 \times 5$                               |
| Berat Pb    | $= 125 \text{ mg}$                            |

Gambar 3.1 Rumus konsentrasi limbah buatan

Jadi, setiap wadah perlakuan membutuhkan logam berat Pb sebanyak 125 mg dalam 5 L aquades.

#### d. Perlakuan Fitoremediasi

Setelah aklimatisasi selama 5 hari dilakukan, maka selanjutnya: merendam tanaman *Pistia stratiotes*, *Salvinia molesta*, dan *Azolla microphylla* masing-masing pada wadah yang berisi limbah buatan Pb dengan konsentrasi 25 mg/l dengan variasi lama waktu yang berbeda yakni 3 hari, 6 hari, 9 hari, dan 12 hari.

#### e. Preparasi Sampel

1. Mencuci tanaman *Pistia stratiotes*, *Salvinia molesta*, dan *Azolla microphylla* dengan aquades.

2. Mengambil bagian akar tanaman *Pistia stratiotes*, *Salvinia molesta*, dan *Azolla microphylla*.
  3. Memotong bagian akar tanaman sehingga menjadi kecil-kecil.
  4. Menggerus potongan-potongan akar tanaman sampai halus.
  5. Menimbang sampel berupa akar tanaman yang telah digerus dan memasukkannya ke dalam cawan penguap.
  6. Memasukkan sampel ke dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam.
  7. Memasukkan sampel dalam desikator untuk didinginkan selama 30 menit.
  8. Menimbang kembali masing-masing sampel.
- f. Destruksi**
1. Memasukkan sampel ke dalam erlenmeyer.
  2. Menambahkan pelarut HNO<sub>3</sub> sebanyak 25 mL.
  3. Melakukan pemanasan mulai dari panas yang rendah kemudian dinaikkan secara perlahan-lahan selama  $\pm 30$  menit.
  4. Menghentikan pemanasan dan menambahkan 5 tetes H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.
  5. Memanaskan kembali sampel dan memberikan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> secara berulang-ulang sampai cairan menjadi jernih.
  6. Mendinginkan hasil destruksi dan menyaringnya dengan kertas saring whatman.
  7. Mengukur kadar logam timbal larutan sampel menggunakan alat Spektrofotometer Serapan Atom (SSA).

### 3.5.2 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan dalam penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Factorial Design*. Faktor-faktor yang digunakan yaitu jenis tanaman (A) dan lama perendaman (B) sehingga terdapat 15 perlakuan.

Faktor I (Jenis Tanaman):

A1 : *Pistia stratiotes*

A2 : *Salvinia molesta*

A3 : *Azolla microphylla*

Faktor II (Lama Perendaman)

B0 (Kontrol)

B1 (3 hari)

B2 (6 hari)

B3 (9 hari)

B4 (12 hari)

Penelitian ini menggunakan rancangan faktorial 3 x 5 sehingga diperoleh 15 kombinasi perlakuan yang terdapat pada Tabel 3.3.

**Tabel 3.3 Rancangan faktorial**

| Lama Perendaman<br>(B) pada limbah Pb<br>(Hari) | Jenis Tanaman (A)                |                                 |                                   |
|---|----------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|
|   | <i>Pistia stratiotes</i><br>(A1) | <i>Salvinia molesta</i><br>(A2) | <i>Azolla microphylla</i><br>(A3) |
| Kontrol (B0)                                    | A1B0                             | A2B0                            | A3B0                              |
| 3 (B1)  | A1B1                             | A2B1                            | A3B1                              |
| 6 (B2)  | A1B2                             | A2B2                            | A3B2                              |
| 9 (B3)  | A1B3                             | A2B3                            | A3B3                              |
| 12 (B4)   | A1B4                             | A2B4                            | A3B4                              |

Keterangan:

A1B0 : Tanaman *Pistia stratiotes* + aquades (perlakuan kontrol)

A2B0 : Tanaman *Salvinia molesta* + aquades (perlakuan kontrol)

A3B0 : Tanaman *Azolla microphylla* + aquades (perlakuan kontrol)

A1B1 : Tanaman *Pistia stratiotes* dengan lama perendaman 3 hari

- A1B2 : Tanaman *Pistia stratiotes* dengan lama perendaman 6 hari  
 A1B3 : Tanaman *Pistia stratiotes* dengan lama perendaman 9 hari  
 A1B4 : Tanaman *Pistia stratiotes* dengan lama perendaman 12 hari  
 A2B1 : Tanaman *Salvinia molesta* dengan lama perendaman 3 hari  
 A2B2 : Tanaman *Salvinia molesta* dengan lama perendaman 6 hari  
 A2B3 : Tanaman *Salvinia molesta* dengan lama perendaman 9 hari  
 A2B4 : Tanaman *Salvinia molesta* dengan lama perendaman 12 hari  
 A3B1 : Tanaman *Azolla microphylla* dengan lama perendaman 3 hari  
 A3B2 : Tanaman *Azolla microphylla* dengan lama perendaman 6 hari  
 A3B3 : Tanaman *Azolla microphylla* dengan lama perendaman 9 hari  
 A3B4 : Tanaman *Azolla microphylla* dengan lama perendaman 12 hari

Banyaknya pengulangan dapat dihitung dengan rumus yang tercantum pada

Gambar 3.2.

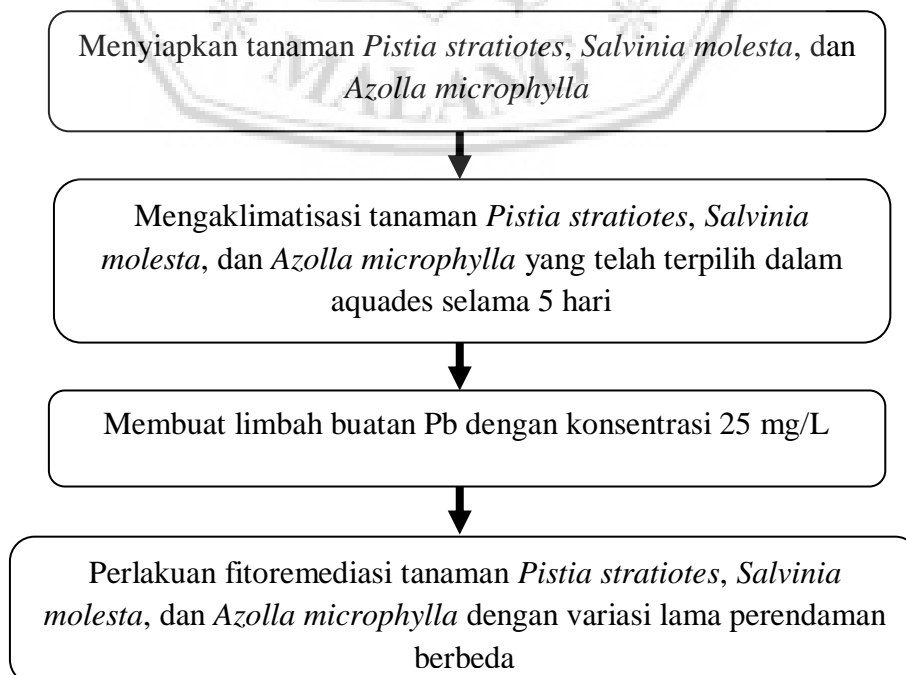
|   |   |
|---|---|
| $  \begin{aligned}  (t-1)(r-1) &\geq 15 \\  (15-1)(r-1) &\geq 15 \\  14(r-1) &\geq 15 \\  14r - 14 &\geq 15 \\  14r &\geq 29 \\  r &\geq 2,07 \\  r &\geq 2  \end{aligned}  $ | <p>Keterangan:</p> <p>r = replikasi (jumlah ulangan)</p> <p>t = treatment (perlakuan)</p> |
|---|---|

Jumlah sampel pada penelitian ini :

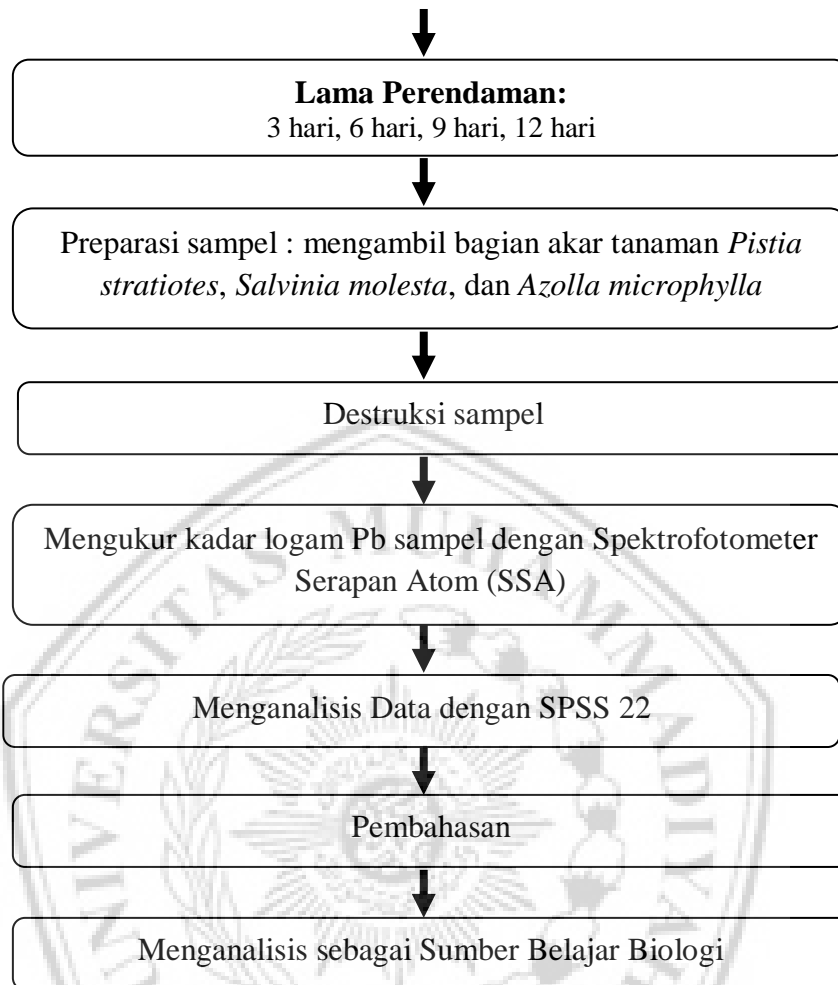
$$\begin{aligned}
 n &= t \times r \\
 n &= 15 \times 2 \\
 n &= 30
 \end{aligned}$$

Gambar 3.2 Rumus pengulangan

### 3.5.3 Pelaksanaan dan Alur Penelitian







### 3.6 Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data dalam penelitian ini adalah observasi eksperimen di laboratorium yang memfokuskan pada variabel terikat pada objek perlakuan yaitu menguji kadar logam Pb pada bagian akar tanaman *Pistia stratiotes*, *Salvinia molesta*, dan *Azolla microphylla* setelah diberi variasi lama perendaman yang berbeda yaitu 3 hari, 6 hari, 9 hari dan 12 hari. Adapun instrumen pengumpulan data dapat dilihat pada Lampiran 3.

### 3.7 Teknik Analisis Data

Teknik analisis data yang digunakan dalam penelitian ini yaitu dengan menggunakan ANOVA dua jalur (*Two Way Anova*) dengan *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versi 22. Pengolahan data yang terlebih dahulu harus dilakukan ialah uji prasyarat yaitu Normalitas *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas dengan uji *Levene*. Data hasil pengamatan harus bersifat normal dan homogen. Jika data yang dihasilkan dari hasil pengamatan tidak berdistribusi normal dan homogen maka dapat dialihkan dengan menggunakan uji non parametrik yaitu dengan uji *Kruskal Wallis*. Selanjutnya yaitu melakukan uji ANOVA dua jalur untuk mengetahui adanya perbedaan dari berbagai perlakuan yang telah dilakukan. Jika ada pengaruh variabel bebas terhadap variabel terikat maka dilanjutkan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf signifikansi 5%.

